



**APAT**

Agenzia per la protezione  
dell'ambiente e per i servizi tecnici



**IRSA-CNR**

Istituto di Ricerca sulle Acque  
Consiglio Nazionale delle Ricerche

# Metodi analitici per le acque

---

## Volume Terzo

Sezione 6000 - Metodi microbiologici - Parte generale

Sezione 7000 - Determinazione di microorganismi

Sezione 8000 - Metodi ecotossicologici

Sezione 9000 - Indicatori biologici

## **Informazioni legali**

L'Agenzia per la protezione dell'ambiente e per i servizi tecnici (**APAT**) o le persone che agiscono per suo conto non sono responsabili dell'uso che può essere fatto delle informazioni contenute in questo manuale.

**APAT** - Agenzia per la protezione dell'ambiente e per i servizi tecnici  
Via Vitaliano Brancati, 48 - 00144 Roma  
[www.apat.it](http://www.apat.it)

**CNR-IRSA** - Consiglio Nazionale delle Ricerche - Istituto di Ricerca sulle Acque  
Via Reno, 1 - 00198 Roma  
[www.irsa.rm.cnr.it](http://www.irsa.rm.cnr.it)

© APAT, Rapporti 29/2003

ISBN 88-448-0083-7

Riproduzione autorizzata citando la fonte

### **Elaborazione grafica**

APAT

*Grafica di copertina:* Franco Iozzoli

*Foto:* Paolo Orlandi

### **Coordinamento tipografico**

APAT

### **Impaginazione e stampa**

I.G.E.R. srl - Viale C.T. Odascalchi, 67/A - 00147 Roma

Stampato su carta TCF

Finito di stampare febbraio 2004

Il manuale "Metodi Analitici per le Acque" è pubblicato nella serie editoriale "Manuali e Linee Guida" dell'Agenzia per la Protezione dell'Ambiente e per i Servizi Tecnici (APAT).

L'opera si articola in tre volumi, suddivisi in sezioni (da 1000 a 9040). Fatta eccezione per la parte generale (sezioni 1000-1040), ogni sezione contiene uno o più metodi, costituiti da capitoli, paragrafi e sottoparagrafi.

I metodi analitici riportati nel manuale sono stati elaborati da una Commissione istituita nel 1996 dall'Istituto di Ricerca sulle Acque del Consiglio Nazionale delle Ricerche (IRSA-CNR), per l'aggiornamento e l'ampliamento dei metodi riportati nel Quaderno 100 "Metodi analitici per le acque", pubblicato dall'IRSA-CNR ed edito dal Poligrafico dello Stato nel 1994.

Un Gruppo di Lavoro, coordinato dall'APAT, e formato dal Servizio di Metrologia Ambientale dell'APAT, dall'Istituto di Ricerca sulle Acque del Consiglio Nazionale delle Ricerche (IRSA-CNR), dalle Agenzie Regionali per la Protezione dell'Ambiente (ARPA) e dalle Agenzie Provinciali per la Protezione dell'Ambiente (APPA), con il contributo del Centro Tematico Nazionale "Acque interne e marino costiere" (CTN/AIM), ha provveduto ad una revisione critica e ad una integrazione dei metodi analitici prodotti dalla Commissione istituita dall'IRSA-CNR.

I metodi analitici riportati nel presente manuale possono essere riprodotti ed utilizzati purché ne sia citata la fonte.

---

L'edizione finale è a cura di:

Maria Belli, Damiano Centioli, Paolo de Zorzi, Umberto Sansone  
(Agenzia per la protezione dell'ambiente e per i servizi tecnici - APAT)

Silvio Capri, Romano Pagnotta, Maurizio Pettine  
(Consiglio Nazionale delle Ricerche - Istituto di Ricerca sulle Acque - CNR-IRSA)



# Indice

## VOLUME 1

### PRESENTAZIONE

### PREMESSA

#### 1000 - PARTE GENERALE

1010 - Strutture, attrezzature e reattivi di laboratorio	5
1020 - Lineamenti di tecniche analitiche	25
1030 - Metodi di campionamento	75
1040 - Qualità del dato analitico	87

#### 2000 PARAMETRI FISICI, CHIMICI E CHIMICO-FISICI

2010 - Acidità e alcalinità (Acidità: titrimetrico; Alcalinità: potenziometrico e titrimetrico)	115
2020 - Colore (qualitativo; spettrofotometrico, metodo al platino-cobalto)	123
2030 - Conducibilità	131
2040 - Durezza (per calcolo; complessometrico con EDTA)	137
2050 - Odore	141
2060 - pH	145
2070 - Salinità	153
2080 - Sapore	157
2090 - Solidi (totali disciolti; totali sospesi; sedimentabili; fissi e volatili a 600°C)	161
2100 - Temperatura	171
2110 - Torbidità	177
2120 - Trasparenza	183

#### 3000 - METALLI E SPECIE METALLICHE

3010 - Trattamento preliminare dei campioni per l'analisi dei metalli mediante mineralizzazione acida	189
3020 - Determinazione di elementi chimici mediante spettroscopia di emissione con sorgente al plasma (ICP-OES)	197
3030 - Determinazione di cationi (sodio, ammonio, potassio, magnesio, calcio) mediante cromatografia ionica	215
3040 - Metodi di preconcentrazione per la determinazione di metalli in tracce	225
3050 - Alluminio (F-AAS; ETA-AAS; spettrofotometrico con eriocromocianina R)	237
3060 - Antimonio (ETA-AAS; HG-AAS)	251
3070 - Argento (ETA-AAS; APDC+ETA-AAS)	263
3080 - Arsenico (HG-AAS; spettrofotometrico con dietilditiocarbammato di argento)	271
3090 - Bario (F-AAS; ETA-AAS)	283
3100 - Berillio (ETA-AAS)	291
3110 - Boro (spettrofotometrico con curcumina; spettrofotometrico con carminio)	297
3120 - Cadmio (F-AAS; ETA-AAS)	303
3130 - Calcio (F-AAS)	311
3140 - Cobalto (ETA-AAS)	315

## INDICE

3150 - Cromo (Cromo totale: F-AAS; ETA-AAS; Cromo VI: APDC+ETA-AAS; Cromo III: ETA-AAS dopo eliminazione di Cromo VI; Cromo totale: coprecipitazione con Fe(OH) <sub>3</sub> +ETA-AAS; Cromo VI: spettrofotometrico con difenilcarbazide)	321
3160 - Ferro (F-AAS; ETA-AAS)	345
3170 - Litio (F-AAS)	355
3180 - Magnesio (F-AAS)	359
3190 - Manganese (F-AAS; ETA-AAS)	363
3200 - Mercurio (ossidazione con KMnO <sub>4</sub> +CV-AAS; ossidazione con HNO <sub>3</sub> mediante microonde +CV-AAS; ossidazione con HNO <sub>3</sub> mediante microonde +CV-AAS e amalgama su oro)	373
3210 - Molibdeno (ETA-AAS)	391
3220 - Nichel (F-AAS; ETA-AAS)	397
3230 - Piombo (F-AAS; ETA-AAS; spettrofotometrico con ditizone)	405
3240 - Potassio (F-AAS)	419
3250 - Rame (F-AAS; ETA-AAS; spettrofotometrico con ossalilididrazide)	423
3260 - Selenio (HG-AAS; spettrofotometrico con o-fenilendiammina)	435
3270 - Sodio (F-AAS)	445
3280 - Stagno (F-AAS; ETA-AAS; spettrofotometrico con violetto di catechina)	449
3290 - Tallio (ETA-AAS; APDC+ETA-AAS)	461
3300 - Tellurio (ETA-AAS)	471
3310 - Vanadio (ETA-AAS; coprecipitazione con Fe(OH) <sub>3</sub> +ETA-AAS)	477
3320 - Zinco (F-AAS)	487

## VOLUME 2

### 4000 - COSTITUENTI INORGANICI NON METALLICI

4010 - Anidride carbonica	495
4020 - Anioni (fluoruro, cloruro, nitrito, bromuro, nitrato, fosfato e solfato) in cromatografia ionica	499
4030 - Azoto ammoniacale (spettrofotometrico all'indofenolo; spettrofotometrico con reattivo di Nessler; potenziometrico; spettrofotometrico o titrimetrico, previa distillazione)	509
4040 - Azoto nitrico (spettrofotometrico mediante salicilato di sodio; spettrofotometrico con NEDA)	525
4050 - Azoto nitroso	533
4060 - Azoto totale e fosforo totale	537
4070 - Cianuro	541
4080 - Cloro attivo libero	547
4090 - Cloruro (titolazione argentometrica, mercurimetrica e potenziometrica)	553
4100 - Fluoruro (spettrofotometrico; potenziometrico)	565
4110 - Fosforo (ortofosfato; fosforo totale)	575
4120 - Ossigeno disciolto (titolazione iodometrica; titolazione potenziometrica)	583
4130 - Silice	595
4140 - Solfato (gravimetrico; turbidimetrico)	599
4150 - Solfito (titolazione iodometrica; metodo cromatografico)	605
4160 - Solfuro	613

### 5000 - COSTITUENTI ORGANICI

5010 - Aldeidi (composti carbonilici) (spettrofotometrico con MBTH; derivatizzazione + SPE+HPLC-UV; derivatizzazione + LLE+GC-ECD)	621
5020 - Ammine alifatiche (GC-AFD)	635
5030 - Azoto organico	641
5040 - Carbonio organico disciolto	645

INDICE

5050 - Diserbanti ureici (LLE o SPE+HPLC-UV)	653
5060 - Prodotti fitosanitari (antiparassitari, pesticidi) (LLE o SPE+GC-NPD o HPLC-UV o GC-MS)	661
5070 - Fenoli (spettrofotometrico con 4-amminoantipirina previa estrazione; spettrofotometrico diretto con 4-amminoantipirina; LLE o SPE+HPLC-UV)	679
5080 - Idrocarburi policiclici aromatici (LLE o SPE+GC-MS; LLE o SPE+HPLC-UV o HPLC-fluorescenza)	697
5090 - Pesticidi clorurati (LLE+GC-ECD)	707
5100 - Pesticidi fosforati (LLE+GC-FPD)	723
5110 - Policlorobifenili e policloroterfenili (LLE+GC-MS o GC-ECD)	743
5120 - Richiesta biochimica di ossigeno (BOD <sub>5</sub> )	767
5130 - Richiesta chimica di ossigeno (COD)	781
5140 - Solventi organici aromatici (spazio di testa statico +GC-FID; spazio di testa dinamico+GC-FID)	789
5150 - Solventi clorurati (spazio di testa statico+GC-ECD; spazio di testa dinamico+GC-ECD)	799
5160 - Sostanze oleose (grassi e oli animali e vegetali; idrocarburi totali) (gravimetrico; IR)	811
5170 - Tensioattivi anionici (MBAS)	827
5180 - Tensioattivi non ionici (BIAS)	833

**VOLUME 3**

**6000 - METODI MICROBIOLOGICI - PARTE GENERALE**

6010 - Modalità di campionamento	845
6020 - Lineamenti di tecniche analitiche	849
6030 - Generalità sui terreni di coltura per batteriologia	853
6040 - Attrezzature di base per le analisi microbiologiche delle acque	855

**7000 - METODI PER LA DETERMINAZIONE DI MICROORGANISMI INDICATORI DI  
INQUINAMENTO E DI PATOGENI**

7010 - Coliformi totali	865
7020 - Coliformi fecali	875
7030 - <i>Escherichia coli</i>	883
7040 - Streptococchi fecali ed enterococchi	895
7050 - Conteggio delle colonie su agar a 36°C e 22°C	909
7060 - Spore di clostridi solfito riduttori	913
7070 - <i>Aeromonas spp</i>	921
7080 - <i>Salmonella spp</i>	927
7090 - <i>Vibrio spp</i>	935
7100 - Uova di elminti	941
7110 - Batteriofagi	945
7120 - Enterovirus	959
7130 - Oocisti di <i>Cryptosporidium</i> e cisti di <i>Giardia</i>	971

**8000 - METODI ECOTOSSICOLOGICI**

8010 - Metodi di valutazione della tossicità con pesci	985
8020 - Metodi di valutazione della tossicità con <i>Daphnia</i>	993
8030 - Metodo di valutazione della tossicità acuta con batteri bioluminescenti	1003
8040 - Metodo di valutazione della tossicità acuta con <i>Ceriodaphnia dubia</i>	1013
8050 - Metodo di valutazione della tossicità acuta con <i>Mysidopsis bahia</i>	1027
8060 - Metodo di valutazione della tossicità acuta con <i>Artemia sp.</i>	1043

## INDICE

---

8070 - Metodo di valutazione della tossicità acuta con <i>Cyprinodon variegatus</i>	1051
8080 - Metodo di valutazione della tossicità acuta con trota iridea ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	1065
8090 - Metodo di valutazione della tossicità cronica (7 giorni) con <i>Mysidopsis bahia</i>	1075
8100 - Metodo di valutazione della tossicità cronica (7 giorni) con <i>Ceriodaphnia dubia</i>	1085
8110 - Metodo di valutazione della tossicità cronica (7 giorni) con <i>Cyprinodon variegatus</i>	1091
8120 - Saggio di tossicità prolungato (14-28 giorni) con trota iridea ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> ) (metodo preliminare)	1099
8130 - Analisi statistica dei risultati di saggi cronici	1109
<b>9000 - INDICATORI BIOLOGICI</b>	
9010 - Indice biotico esteso (I.B.E.)	1115
9020 - Determinazione della clorofilla: metodo spettrofotometrico	1137
9030 - Determinazione dell'adenosintrifosfato (ATP)	1143
9040 - Conta diretta dell'abbondanza microbica (DAPI)	1149

# **6000 - METODI MICROBIOLOGICI**



La presenza di contaminanti di natura biologica nelle acque ha particolare rilevanza per le possibili conseguenze sulla salute dell'uomo e/o degli animali. Organismi (patogeni e opportunisti patogeni) capaci di provocare malattie trasmesse per via idrica possono essere eliminati con le feci di individui infetti, raggiungere l'ambiente acquatico e, attraverso differenti modalità, possono infettare e dare origine a patologie in altri soggetti, garantendo, in tal modo, la circolazione dei patogeni (circuito fecale-orale). Nelle acque vengono a ritrovarsi tuttavia anche quei microrganismi generalmente di per sé non patogeni, a prevalente habitat intestinale, la cui presenza nell'ambiente idrico costituisce un indice indiretto e teorico della eventuale contemporanea presenza di patogeni. Essi costituiscono il gruppo dei microrganismi definiti indicatori di contaminazione fecale, la cui ricerca costituisce la parte largamente prevalente dell'esame microbiologico delle acque e quella universalmente praticata. Ciò è dovuto essenzialmente a motivi di ordine pratico, legati alla relativa semplicità nel rilevamento degli indicatori a fronte della ricerca dei patogeni. Diverse difficoltà pratiche si oppongono infatti all'adozione routinaria del rilevamento di patogeni (enterobatteri, virus e parassiti) nelle acque, anche se, disponendo di laboratori sufficientemente attrezzati e di personale specializzato, è comunque possibile effettuare questo tipo di indagini.

L'esame microbiologico delle acque dà la possibilità di verificare l'eventuale presenza dei microrganismi presenti in esse, mediante valutazioni quali-quantitative basate su tecniche analitiche che ne permettono l'evidenziazione e/o lo sviluppo.

L'analisi microbiologica riveste particolare importanza quando si considerino acque destinate all'approvvigionamento idrico-potabile sia in relazione alla loro qualità in funzione del trattamento di disinfezione cui debbono essere sottoposte, sia dopo la loro immissione nella rete idrica. Analogamente, con il controllo microbiologico si definisce la qualità di acque superficiali, quando vengano destinate ad usi a rilevanza igienico-sanitaria e di acque reflue che, con il loro apporto inquinante, influenzano e modificano le caratteristiche del corpo idrico recettore (fiume, lago, mare).

Per la ricerca di microrganismi di natura batterica l'esame si basa, generalmente e di routine, sulla possibilità di coltivare su idonei substrati, ed in idonee condizioni colturali, i batteri contenuti nell'acqua in esame, utilizzando particolari metodologie finalizzate all'individuazione differenziale di specie o di gruppi microbici che si ritengono significativi ai fini del giudizio igienico e/o di qualità dell'acqua in esame.

I metodi batteriologici tradizionali sono basati sulla semina in idonei terreni di coltura, in genere liquidi, e sulla incubazione in specifiche condizioni, di aliquote dell'acqua da esaminare. Dopo incubazione la presenza o l'assenza del microrganismo ricercato nell'aliquota di campione seminata viene messa in evidenza sulla base della eventuale variazione subita dal terreno insemato (intorbidimento, cambiamento di colore, ecc.). Eventuali prove successive, partendo dalla coltura iniziale, costituiscono prove di conferma alle quali possono fare seguito ulteriori saggi per la definitiva identificazione dei microrganismi ricercati.

Utilizzando terreni differenti ed opportune temperature di incubazione, è possibile rendere selettivo il metodo al fine di coltivare solo i gruppi microbici di interesse e, talora, una singola specie batterica.

Una variante introdotta da tempo nel metodo tradizionale è costituita dalla semina di quantità scalari del campione al fine di pervenire ad una stima probabilistica del numero di microrganismi presenti (metodo MPN o del numero più probabile o dei tubi multipli).

L'analisi di piccoli volumi di acqua può essere svolta con la tecnica della semina di aliquote del campione su/in terreni solidificati all'agar. Dopo opportuna incubazione, il numero delle colonie sviluppate permette di risalire al numero di batteri presenti per unità di volume del

campione, partendo dal presupposto che ogni colonia abbia origine da un solo microrganismo. La semina può essere effettuata sulla superficie del terreno agarizzato già solidificato in piastra di Petri (non è ordinariamente possibile seminare aliquote superiori a 0,1-1 mL) o nello spessore del terreno all'agar (generalmente non è possibile seminare aliquote superiori a 2 mL). È pertanto evidente che questa metodica è utilizzabile solo per mettere in evidenza microrganismi presenti nel campione in numero relativamente elevato e che quindi siano in numero consistente in volumi ridotti.

La tecnica che è andata affermandosi negli ultimi decenni è comunque quella della filtrazione su membrana che permette l'esame anche di grandi volumi di acqua qualora la qualità dell'acqua lo consenta. Tuttavia, in alcuni casi, la presenza di particolato in sospensione può causare l'otturazione dei pori della membrana, fattore che costituisce il limite alla filtrazione di quantitativi di acqua troppo elevati. Comunque, la metodica della filtrazione su membrana, oltre a consentire l'esame di elevati volumi di acqua, presenta diversi vantaggi semplificando le procedure di laboratorio, abbreviandone i tempi operativi anche in funzione dei tempi di incubazione; inoltre consente, ordinariamente, di rilevare direttamente (per conteggio diretto) il numero di microrganismi presenti nel campione esaminato ed è agevolmente adattabile a situazioni di emergenza.

Diversamente, la ricerca di organismi di altra natura (virus, parassiti, metazoi) comporta l'uso di metodologie complesse, generalmente costose, specifiche per l'organismo o il gruppo di organismi ricercati e applicabili da personale specializzato. Inoltre, generalmente, queste tecniche forniscono risposte in tempi lunghi necessitando fasi diverse di preparazione del campione legate anche all'esigenza di concentrare grandi volumi di acqua in relazione all'ampia variabilità delle concentrazioni dei patogeni nelle acque.

## 6010. Modalità di campionamento

Il prelievo dei campioni per l'esame microbiologico deve essere effettuato con recipienti puliti e la sterilità è funzione delle determinazioni che devono essere effettuate e del tipo di acqua che si deve analizzare. Poiché il rischio di contaminazione del campione diminuisce quanto più sono inquinate le acque da controllare, il prelievo di campioni per la caratterizzazione e/o il controllo delle acque reflue è meno problematico anche se, in questo caso, è necessario osservare norme igieniche di sicurezza a tutela della salute dell'operatore.

Per i prelievi da effettuare per immersione della bottiglia, (acque superficiali, raccolte idriche in genere) si devono usare bottiglie sterili incartate prima della sterilizzazione e al momento dell'immersione la bottiglia deve essere afferrata con una pinza o con altro idoneo sistema che permetta l'apertura del tappo a comando per mezzo di dispositivi adatti.

Le bottiglie utilizzate per prelevare campioni per analisi microbiologiche, non devono mai essere sciacquate all'atto del prelievo. Il risciacquo oltre ad esporre la bottiglia a possibili contaminazioni, asporterebbe dalla bottiglia il tiosolfato eventualmente presente.

All'atto del prelievo, la bottiglia sterile deve essere aperta avendo cura di non toccare la parte interna del tappo che andrà a contatto con il campione prelevato, né l'interno del collo della bottiglia; subito dopo il prelievo si deve provvedere all'immediata chiusura della stessa.

Nell'eseguire i prelievi si deve sempre avere cura di non riempire completamente la bottiglia al fine di consentire una efficace agitazione del campione al momento dell'analisi in laboratorio.

Se l'acqua da esaminare è clorata, le bottiglie di prelievo devono contenere sodio tiosolfato in concentrazione idonea ad inibire l'azione disinfettante del cloro. Con le concentrazioni di cloro generalmente in uso è sufficiente una soluzione al 10% di sodio tiosolfato, nella quantità di 0,1 mL per ogni 100 mL di capacità della bottiglia aggiunto prima della sterilizzazione.

Per l'esecuzione delle analisi si deve provvedere al prelievo in bottiglia di quantitativi di acqua di poco superiori al minimo necessario per procedere allo svolgimento degli esami richiesti. Per la ricerca di patogeni (es. virus, parassiti), e quindi eventualmente per la necessità di prelevare grandi volumi di acqua, è opportuno effettuare il prelievo/concentrazione del campione *in situ*.

Il campione prelevato deve essere accompagnato da tutte le indicazioni necessarie alla sua identificazione, quali la data e l'ora del campionamento, il tipo di acqua, la precisa annotazione del punto in cui è stato effettuato il prelievo e devono altresì essere trasmesse, con il campione, tutte le indicazioni concernenti le eventuali determinazioni effettuate in loco e qualunque altra osservazione possa risultare utile nella interpretazione dei risultati di laboratorio. A parte ogni esigenza di natura giuridica, che può prevedere precise modalità di identificazione del campione, è comunque assolutamente necessario che il campione venga contrassegnato sia con il codice numerico, sia con l'indicazione in chiaro del punto di campionamento.

### 1. Parametri da rilevare all'atto del campionamento

La raccolta del campione deve essere accompagnata da alcune determinazioni da effettuare preferibilmente (alcune obbligatoriamente) sul luogo. Si tratta di determinazioni di alcuni parametri fisici e chimico-fisici che, durante la conservazione ed il trasporto, vanno incontro a variazioni tali da non consentire più la loro corretta misurazione in laboratorio. I parametri da rilevare sul luogo variano molto in relazione al tipo di acqua, all'uso ed al tipo di analisi da eseguire.

La temperatura, uno dei parametri che durante la conservazione ed il trasporto del campio-

ne va incontro a modifiche, va misurata *in situ* all'atto del prelievo utilizzando un termometro di idonea sensibilità o una sonda che presenta il vantaggio, rispetto al termometro, di rilevare la temperatura dell'acqua anche a differenti profondità, al di sotto del pelo libero dell'acqua. Il termometro classicamente utilizzato per la misura della temperatura dell'acqua è il cosiddetto termometro a pozzetto. Esso è dotato di un piccolo recipiente alla sua estremità, dalla parte del bulbo del termometro, solidale con il termometro stesso, nel quale si raccoglie l'acqua prelevata con l'immersione. Consente alla colonnina termometrica (in genere di mercurio) di rimanere al livello corrispondente alla temperatura del campione, per il tempo necessario ad effettuare la lettura, in quanto il bulbo del termometro continua ad essere immerso nell'acqua campionata.

Anche la concentrazione di ossigeno disciolto fa parte di quei parametri che possono andare incontro a modifiche durante il trasporto, modifiche che possono togliere significato alla determinazione effettuata in laboratorio. La determinazione in loco si effettua con apposite sonde (metodo elettrometrico) alcune delle quali (le sonde multiparametriche) hanno il vantaggio di consentire la misura di più parametri.

La concentrazione di cloro attivo, richiesta obbligatoriamente in alcuni casi (es. acque di scarico), deve necessariamente essere effettuata in loco. Infatti l'eventuale presenza di sostanze riducenti (in primo luogo le sostanze organiche) determina un progressivo consumo di cloro durante la conservazione ed il trasporto. La determinazione effettuata in laboratorio risulta modificata fornendo valori nettamente inferiori di cloro-attivo rispetto ai valori presenti nel campione all'origine.

La determinazione del pH deve essere effettuata in loco soprattutto in quei casi in cui la presenza concomitante di sostanze interferenti, non sempre note, può provocare sensibili variazioni del valore del pH durante la conservazione ed il trasporto. La determinazione in loco deve essere effettuata preferibilmente con il metodo elettrometrico. La determinazione con metodi colorimetrici (cartine per la misura del pH la cui colorazione assunta, a contatto con l'acqua, viene raffrontata ad una scala cromatica) è da ritenere estremamente imprecisa e da tenere in considerazione solo in situazioni di emergenza.

## 2. Modalità e tempi di trasporto e conservazione

Tutti i campioni di acqua, indipendentemente dalla loro natura, devono essere esaminati nel minore tempo possibile. Il trasporto deve avvenire in modo che i campioni siano mantenuti al riparo dalla luce e ad una temperatura compresa fra  $+4^{\circ}$  e  $+10^{\circ}\text{C}$ .

Le alterazioni cui possono andare incontro i campioni prelevati, in seguito alla inosservanza dei tempi e/o delle modalità di trasporto, sono influenzate dalla composizione chimica dell'acqua, dal pH, dall'azoto proteico, dalla qualità e dalla quantità della flora batterica presente e da altri fattori indeterminati.

Tra il momento del prelievo e l'esecuzione delle analisi microbiologiche, i tempi massimi consigliati per l'esame di acque dolci superficiali, acque marine e acque di scarico vanno da un minimo di 6-8 ore, con l'obbligo di non superare un periodo medio di 24 ore. Quando non sia possibile rispettare i tempi sopracitati, deve essere considerata la possibilità di utilizzare, almeno per alcune indagini microbiologiche, idonei sistemi analitici portatili o laboratori mobili.

Al fine di consentire il mantenimento della temperatura richiesta ( $+4 \div +10^{\circ}\text{C}$ ) è necessario usare frigoriferi portatili o contenitori termoisolanti utilizzando, per il mantenimento della temperatura, apposite piastre frigorifere commerciali, ma evitando comunque il congelamento del campione (ad eccezione di campioni in cui sono da ricercare virus).

Durante il trasporto le bottiglie devono essere collocate nel contenitore in modo da impedire il loro rovesciamento e, fra le bottiglie, devono essere collocati idonei sistemi di separazione per evitare rotture.

Di seguito vengono indicati i tempi massimi raccomandati per la conservazione dei campioni in funzione dei microrganismi da ricercare (Tab. 1).

Tabella 1: Tempi massimi (ancora accettabili) raccomandati per la conservazione dei campioni per analisi microbiologiche

Gruppi di organismi da ricercare	Tempo massimo (accettabile) in ore
Organismi vitali a 22°C o 36°C	8 (12)
Escherichia coli e coliformi	12 (18)
Enterococchi	12 (18)
Batteri e spore di Clostridi solfito-riduttori	48 (72)
Batteriofagi	48 (72)
Salmonella e altre Enterobatteriacee	12 (18)
Enterovirus	48 (72)
Cisti/ocisti di Giardia/Cryptosporidium	48 (72)
Amoebae	48 (72)
Staphylococcus	8 (12)
Pseudomonas aeruginosa	8 (12)
Legionella	48 (72)
Cianobatteri	48 (72)
Campylobacter	6 (8)
Uova di Elminti (a pH 2,0)	48 (72)